

**BETA-D-GLUCAN AND ITS PRODUCTION AND USE**

Publication number: JP62201901

Publication date: 1987-09-05

Inventor: MISAKI AKIRA; SONE YOSHIAKI; MIHASHI MASAKAZU; MIYAKE TOSHIO

Applicant: HAYASHIBARA BIOCHEM LAB

Classification:

- International: A61K47/36; A23P1/00; A23P1/02; A61K31/715;  
 A61K47/00; A61P35/00; A61P37/00; C08B37/00;  
 C12P19/04; C12R16/45; A61K47/36; A23P1/00;  
 A23P1/02; A61K31/715; A61K47/00; A61P35/00;  
 A61P37/00; C08B37/00; C12P19/00; (IPC1-7);  
 A23P1/00; A23P1/02; A61K31/715; A61K47/00;  
 C08B37/00; C12P19/04; C12R1/645

- European: C08B37/00M3, C12P19/04

Application number: JP19860044189 19860303

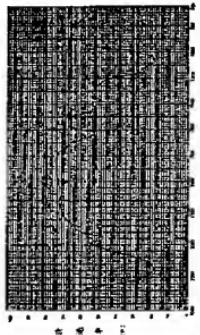
Priority number(s): JP19860044189 19860303

Also published as:

EP0236124 (A2)  
 US4965347 (A1)  
 EP0236124 (A3)  
 EP0236124 (B1)

[Report a data error here](#)**Abstract of JP62201901**

**PURPOSE:** To obtain a beta-D-glucan useful as an antitumoral agent, a paste for food or the like advantageously in good productivity, by cultivating microorganisms of the genus *Aureobasidium* and collecting the product from the culture. **CONSTITUTION:** Microorganisms of the genus *Aureobasidium* (e.g., *Aureobasidium pullulans*, (FO 4464) are cultivated, and the product is collected to obtain the purpose beta-D-glucan (*aureobasidin*). This compound shows a composition of C 44.1%, H=6.18%, N<0.1% and ash <0.01% in an elementary analysis, a MW (gel permeation chromatography) of 100,000-500,000 and a m.p. of about 230 deg C (decomposed). It has a specific rotation [alpha]<25>D of + or -4 deg., and an IR absorption spectrum shown in the figure, is readily soluble in 0.5N NaOH and dimethyl sulfoxide, soluble in water and insoluble in methanol and acetone and is positive to the anthrone-sulfuric acid reaction and the phenol-sulfuric acid reaction and negative to the carbazole reaction, etc.



Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

## ⑫ 公開特許公報 (A)

昭62-201901

⑬ Int. Cl.

C 08 B 37/00  
 C 12 P 19/04  
 // A 23 P 1/00  
 1/02  
 A 61 K 31/715  
 47/00

識別記号

A B A  
 A D U  
 3 3 6

厅内整理番号  
 6779-4C  
 A-8515-4B  
 7110-4B  
 7110-4B  
 7252-4C  
 7252-4C  
 B-6742-4C  
 A-6742-4C  
 D-6742-4C  
 H-6742-4C

⑭ 公開 昭和62年(1987)9月5日

(C 12 P 19/04  
 C 12 R 1:645)

審査請求 未請求 発明の数 3 (全16頁)

⑮ 発明の名称  $\beta$ -D-グルカンとその製造方法及び用途

⑯ 特願 昭61-44189

⑰ 出願 昭61(1986)3月3日

⑱ 発明者 三崎 旭 神戸市東灘区深江南町1丁目1番58-355号  
 ⑲ 発明者 曾根 良昭 泉佐野市鶴原219番の8  
 ⑳ 発明者 三橋 正和 岡山市小橋町1丁目4番11号  
 ㉑ 発明者 三宅 俊雄 岡山市奥田1-7番10-403号  
 ㉒ 出願人 株式会社 林原生物化 岡山市下石井1丁目2番3号  
 学研究所

## 明細書

## 1. 発明の名称

 $\beta$ -D-グルカンとその製造方法及び用途

## 2. 特許請求の範囲

## (1) 理化学的性質が、

## a. 元素分析

C ≈ 44.1% H ≈ 6.18%  
 N < 0.1% 灰分 < 0.01%

## b. 分子量(グルコン法)

100,000乃至500,000

## c. 熔点

約230°Cで分解

## d. 比旋光度

$[\alpha]_D^{25} \pm 4^{\circ}$   
 ( $\lambda = 1, c = 1.0 \text{ g/1N-NaOH}$ )

e. 赤外線吸収スペクトル(KBr鉢剤法)  
 四面に示す

## f. 溶解性

0.5N-NaOH、ジメチルスルホキシドに易溶  
 水に可溶

メタノール、エタノール、アセトン、クロホルムに不溶

## g. 显色反応

|            |    |
|------------|----|
| アントロニー硫酸反応 | 陽性 |
| フェノール-硫酸反応 | 陰性 |
| カルバゾール反応   | 陰性 |
| ニンヒドリン反応   | 陰性 |
| ヨード反応      | 陰性 |

## h. 塩基性、酸性、中性の区别

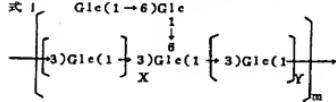
凍結乾燥品の0.1mol水溶液は中性乃至微酸性

## i. 物性

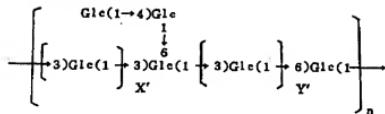
|  |  |
|--|--|
| 粉末品は白色   |  |
| を示す $\beta$ -D-グルカン(オーレオバシラン)。   |  |
| (2) $\beta$ -D-グルカンが、メチル化分析法により、2,3,4,6-テトラ-O-メチル-D-グルコース 1.0モルに対して、2,4,6-トリ-O-メチル-D-グルコース 11乃至15モル、2,3,4-トリ-O-メチル-D-グルコース 0.8乃至1.2モル、2,3,6-トリ-O-メチル |  |

- D-グルコース 0.6乃至1.0モルおよび  
2,4-ジ-O-メチル-D-グルコース 0.8  
乃至1.2モルのモル比を示す $\beta$ -D-グルカン  
(オーレオバシランA)であるか、または、  
2,3,4,6-テトラ-O-メチル-D-グルコ  
ース 1.0モルに対して、2,4,6-トリ-O-  
メチル-D-グルコース 3乃至5モル、2,3,4  
-トリ-O-メチル-D-グルコース 0.3乃至  
0.5モル、2,3,6-トリ-O-メチル-D-  
グルコース 0.2乃至0.4モルおよび2,4-ジ  
-O-メチル-D-グルコース 0.9乃至1.2  
モルのモル比を示す $\beta$ -D-グルカン(オーレ  
オバシランB)であることを特徴とする特許請  
求の範囲第①項記載の $\beta$ -D-グルカン(オーレ  
オバシラン)。

(3)  $\beta$ -D-グルカンが、繰り返し単位として、



および式 II



(但し、式中、Glcは $\beta$ -結合したD-グルコ  
ビラノース残基を示し、X、Y、X'およびY'は、  
X+YまたはX'+Y'が3乃至5になる1以上の  
整数を示し、mおよびnは、その比が1:3乃至  
5を示す。)

で表される $\beta$ -D-グルカン(オーレオバシラ  
ンB)であることを特徴とする特許請求の範囲  
第①項または第④項記載の $\beta$ -D-グルカン。

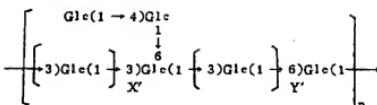
(4) オーレオバシディクム属に属する微生物を培  
養し、その培養物から、

理化学的性質が、

b 元素分析

C ≈ 44.1% H ≈ 6.18%  
N < 0.1% 灰分 < 0.01%

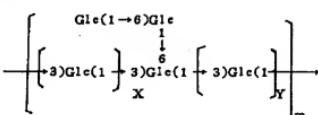
および式 II



(但し、式中、Glcは $\beta$ -結合したD-グルコ  
ビラノース残基を示し、X、Y、X'およびY'は、  
X+YまたはX'+Y'が11乃至15になる1以上  
の整数を示し、mおよびnは、その比が1:3乃至  
5を示す。)

で表される $\beta$ -D-グルカン(オーレオバシラ  
ンA)であるか、または、

式 I



b 分子量(グルコン法)。

100,000乃至500,000

c 融点

約230°Cで分解

d 比旋光度

(d)<sub>D</sub> ± 4°

(Z=1, c=1.0% 1N-NaOH)

e 赤外線吸収スペクトル(KBr錠剤法)

四面に示す

f 溶解性

0.5N-NaOH、ジメチルスルホキシドに易溶  
水に可溶

メタノール、エタノール、アセトン、ク  
ロロホルムに不溶

g 黑色反応

|            |    |
|------------|----|
| アントロニー硫酸反応 | 陽性 |
| フェニール硫酸反応  | 陽性 |
| カルバゾール反応   | 陰性 |
| ニンヒドリン反応   | 陰性 |
| ヨード反応      | 陰性 |

## h 塩基性、酸性、中性の區別

凍結乾燥品の0.1モル水溶液は中性乃至微  
酸性

## i 物 性

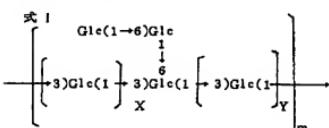
粉末品は白色

を示す $\beta$ -D-グルカンを採取することを特徴とする $\beta$ -D-グルカン(オーレオバシラン)の製造方法。

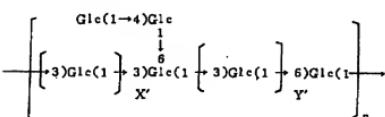
- (a)  $\beta$ -D-グルカンが、メチル化分析法により、2,3,4,6-テトラ-O-メチル-D-グルコース 1.0モルに対して、2,4,6-トリ-O-メチル-D-グルコース 11乃至15モル、2,3,4-トリ-O-メチル-D-グルコース 0.8乃至1.2モル、2,3,6-トリ-O-メチル-D-グルコース 0.6乃至1.0モルおよび2,4-ジ-O-メチル-D-グルコース 0.8乃至1.2モルのモル比を示す $\beta$ -D-グルカン(オーレオバシランA)であるか、または、2,3,4,6-テトラ-O-メチル-D-グルコース 1.0モルに対して、2,4,6-トリ-O-メチル-

(但し、式中、Glcは $\beta$ -結合したD-グルコピラノース残基を示し、X、Y、X'およびY'は、X+YまたはX'+Y'が11乃至15になる1以上の整数を示し、mおよびnは、その比が1:3乃至5を示す。)

で表される $\beta$ -D-グルカン(オーレオバシランA)であるか、または、



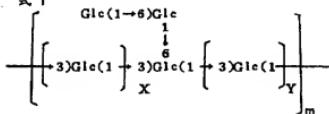
および式 II



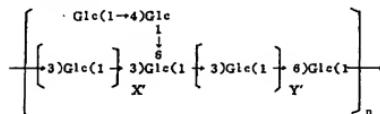
(但し、式中、Glcは $\beta$ -結合したD-グルコピ

D-グルコース 3乃至5モル、2,3,4-トリ-O-メチル-D-グルコース 0.3乃至0.5モル、2,3,6-トリ-O-メチル-D-グルコース 0.2乃至0.4モルおよび2,4-ジ-O-メチル-D-グルコース 0.9乃至1.2モルのモル比を示す $\beta$ -D-グルカン(オーレオバシランB)であることを特徴とする特許請求の範囲第10項記載の製造方法。

- (b)  $\beta$ -D-グルカンが、繰り返し単位として、式 I



および式 II



ラノース残基を示し、X、Y、X'およびY'は、X+YまたはX'+Y'が3乃至5になる1以上の整数を示し、mおよびnは、その比が1:3乃至5を示す。)

で表される $\beta$ -D-グルカン(オーレオバシランB)であることを特徴とする特許請求の範囲第10項または第10項記載の製造方法。

- (c)  $\beta$ -D-グルカン(オーレオバシラン)を微生物体または該菌体細胞壁からアルカリ性水溶液で溶出採取することを特許請求の範囲第4項、該項または第10項記載の製造方法。

- (d)  $\beta$ -D-グルカン(オーレオバシラン)とともにブルランを採取することを特徴とする特許請求の範囲第10項、第10項または第10項記載の製造方法。

- (e) 理化学的性質が、

a 元素分析

$$C \approx 44.1\% \quad H \approx 6.18\%$$

$$N < 0.1\% \quad \text{灰分} < 0.01\%$$

b 分子量(ゲル渗透法)

100,000乃至500,000

c 熔点

約230°Cで分解

d 比旋光度

[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> ± 4°

(Z=1, c=1.0% 1N-NaOH)

e 赤外線吸収スペクトル(KBr 細剤法)

図面に示す

f 溶解性

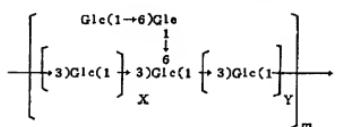
0.5N-NaOH、ジメチルスルホキシドIC易溶  
水に可溶メタノール、エタノール、アセトン、ク  
ロロホルムIC不溶

g 显色反応

|            |    |
|------------|----|
| アントロニー硫酸反応 | 陽性 |
| フェノール-硫酸反応 | 陽性 |
| カルバゾール反応   | 陰性 |
| ニンヒドリン反応   | 陰性 |
| ヨード反応      | 陰性 |

パンラン A) であるか、または、2,3,4,6-テトライ-O-メチル-D-グルコース 1.0モルに對して、2,4,6-トリ-O-メチル-D-グルコース 3乃至5モル、2,3,4-トリ-O-メチル-D-グルコース 0.3乃至0.5モル、2,3,6-トリ-O-メチル-D-グルコース 0.2乃至0.4モルおよび2,4-ジ-O-メチル-D-グルコース 0.9乃至1.2モルのモル比を示す  $\beta$ -D-グルカン(オーレオバシラン B) であることを特徴とする特許請求の範囲第9項記載の組成物。

⑩  $\beta$ -D-グルカンが、繰り返し単位として、式 I



h 塩基性、酸性、中性の区别

凍結乾燥品の0.1モル水溶液は中性乃至微  
酸性

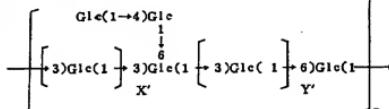
1 物性

粉末品は白色

を示す  $\beta$ -D-グルカン(オーレオバシラン)、または該  $\beta$ -D-グルカン(オーレオバシラン)を過硫酸酸若しくはその水溶性塩で酸化処理し、次いで、還元処理して得られるポリオール型  $\beta$ -D-グルカン(ポリオール型オーレオバシラン)を含有せしめたことを特徴とする組成物。

⑪  $\beta$ -D-グルカンが、メチル化分析法により、2,3,4,6-テトライ-O-メチル-D-グルコース 1.0モルに對して、2,4,6-トリ-O-メチル-D-グルコース 11乃至15モル、2,3,4-トリ-O-メチル-D-グルコース 0.8乃至2.1モル、2,3,6-トリ-O-メチル-D-グルコース 0.6乃至1.0モルおよび2,4-ジ-O-メチル-D-グルコース 0.8乃至1.2モルのモル比を示す  $\beta$ -D-グルカン(オーレオ

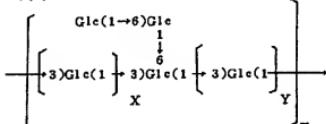
および式 II



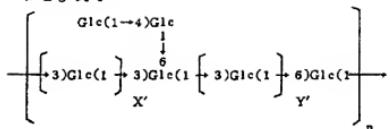
(但し、式中、Glcは  $\beta$ -結合したD-グルコピラノース残基を示し、X、Y、X'およびY'は、X+YまたはX'+Y'が11乃至15になる1以上の整数を示し、mおよびnは、その比が1:3乃至5を示す。)

で表される  $\beta$ -D-グルカン(オーレオバシラン A) であるか、または、

式 I



および式 II



(但し、式中、Glcは $\beta$ 結合したD-グルコビラノース残基を示し、X、Y、X'およびY'は、X+YまたはX'+Y'が3乃至5になる1以上の整数を示し、mおよびnは、その比が1:3乃至5を示す。)

で表される $\beta$ -D-グルカン(オーレオバシランB)であることを特徴とする特許請求の範囲第9項または第10項記載の組成物。

93. 組成物が成形物であることを特徴とする特許請求の範囲第9項、第10項または第11項の組成物。

94. 組成物が、飲食物であることを特徴とする特許請求の範囲第9項、第10項または第11項の組成物。

#### e 赤外線吸収スペクトル(KBr錠剤法)

図面に示す

#### f 溶解性

0.5N-NaOH、ジメチルスルホキシドに易溶  
水に可溶

メタノール、エタノール、アセトン、クロロハルムに不溶

#### g 色反応

|            |    |
|------------|----|
| アントロシニ硫酸反応 | 陽性 |
| フェノール-硫酸反応 | 陽性 |
| カルバゾール反応   | 陰性 |
| ニンヒドリン反応   | 陰性 |
| ヨード反応      | 陰性 |

#### h 塩基性、酸性、中性的区別

凍結乾燥品の0.1N水溶液は中性乃至酸性  
性

#### i 物性

粉末品は白色

を示す新規な $\beta$ -D-グルカン(オーレオバシラン)とその製造方法及び用途に関する。

60. 組成物が、抗腫瘍剤であることを特徴とする特許請求の範囲第9項、第10項、第11項または第12項記載の組成物。

#### 3. 発明の詳細な説明

##### (産業上の利用分野)

本発明は、化学工業、食品工業、医薬品工業など幅広い用途を持つ新規な $\beta$ -D-グルカン(オーレオバシラン)とその製造方法及び用途に関するものである。

更に詳細には、理化学的性質

#### a 元素分析

C = 44.1% H = 6.18%

N < 0.1% 残分 < 0.01%

#### b 分子量(ゲル干渉法)

100,000乃至500,000

#### c 融点

約230℃で分解

#### d 比旋光度

$[\alpha]_D^{25} \pm 4^\circ$

(L=1, c=1.0% 1N-NaOH)

#### (従来の技術)

$\beta$ -D-グルカンのある種のものは、血糖低下作用、コレステロール低下作用、細胞免疫活性を介しての抗腫瘍作用などの生理作用を示すことが知られており、医薬若しくはその原料として注目されている。

なかでも、悪性腫瘍に対して抗腫瘍活性を示す、抗腫瘍剤として注目されている $\beta$ -D-グルカンとしては、例えば、H. Saito et al., Agr. Biol. Chem., Vol. 32, 1261-1269 (1968)で報告されているパキマン(Pachymann), T. Sasaki et al., Carbohydrate Res., Vol. 47, 99-104 (1976)で報告されているレンチナン(Lentinan), K. Tabata et al., Carbohydrate Res., Vol. 89, 121-135 (1981)で報告されているシゾフィラン(Shizophylan), A. Misaki et al., Carbohydrate Res., Vol. 92, 115-129 (1981)で報告されている $\beta$ -D-グルカンなどがある。

しかしながら、これら $\beta$ -D-グルカンは、担子菌の子実体を原料とすることから、製造に長期

間を要するだけでなく、その生産量も不充分である。

## (本発明の解決しようとする問題点)

本発明者等は、用途が医薬品工業のみならず、食品工業、化学工業など、その他多くの工業分野にも利用できる新しい $\beta$ -D-グルカンの開発を目的に研究した。

その結果、オーレオバシディウム(Aureobasidium)属に属する微生物を培養して、その培養物中に、理化学的性質が、

## a. 元素分析

$$\begin{array}{ll} C \approx 44.1\% & H \approx 6.18\% \\ N < 0.1\% & 灰分 < 0.01\% \end{array}$$

## b. 分子量(ゲル溝過法)

100,000 乃至 500,000

## c. 融点

約 230 ℃ で分解

## d. 比旋光度

$$[\alpha]_D^{25} \pm 4^\circ$$

$$(\lambda = 1, c = 1.0\%, 1N-NaOH)$$

テトラ-O-メチル-D-グルコース 1.0 モルに対して、2,4,6-トリ-O-メチル-D-グルコース 11 乃至 15 モル、2,3,4-トリ-O-メチル-D-グルコース 0.8 乃至 1.2 モル、2,3,6-トリ-O-メチル-D-グルコース 0.6 乃至 1.0 モルおよび 2,4-ジ-O-メチル-D-グルコース 0.8 乃至 1.2 モルのモル比を示すか、または、2,3,4,6-テトラ-O-メチル-D-グルコース 1.0 モルに対して、2,4,6-トリ-O-メチル-D-グルコース 3 乃至 5 モル、2,3,4-トリ-O-メチル-D-グルコース 0.3 乃至 0.5 モル、2,3,6-トリ-O-メチル-D-グルコース 0.2 乃至 0.4 モルおよび 2,4-ジ-O-メチル-D-グルコース 0.9 乃至 1.2 モルのモル比を示す新規構造の $\beta$ -D-グルカンを見いだした。

この $\beta$ -D-グルカンは、R. G. Brown et al., Acta Chem. Scand., Vol. 21, 2379 - 2382 (1967) で報告されているオーレオバシディウム ブルタヌスからの多糖類とも明らかに異なっていることが

## e. 赤外線吸収スペクトル(KBr 錠剤法)

図面に示す

## f. 溶解性

0.5N-NaOH、ジメチルスルホキシドに易溶  
水に可溶  
メタノール、エタノール、アセトン、クロロホルムに不溶

## g. 显色反応

|            |    |
|------------|----|
| アントロニー硫酸反応 | 陽性 |
| フェノール-硫酸反応 | 陰性 |
| カルバゾール反応   | 陰性 |
| ニンヒドリン反応   | 陰性 |
| ヨード反応      | 陰性 |

## h. 塩基性、酸性、中性の区別

凍結乾燥品の 0.1% 水溶液は中性乃至微酸性

## i. 物性

粉末品は白色

を示す $\beta$ -D-グルカン、とりわけ、 $\beta$ -D-グルカンが、メチル化分析法により、2,3,4,6-

判明した。

本発明者等は、この新規な $\beta$ -D-グルカンをオーレオバシラン(Aureobasillan)と命名した。

このオーレオバシランは、次のような理化学的性質を有していることから、新規な $\beta$ -D-グルカンであることが認められる。

## a. 元素分析

$$\begin{array}{ll} \text{実測値} & C \approx 44.1\% \quad H \approx 6.18\% \\ & N < 0.1\% \quad 灰分 < 0.01\% \end{array}$$

$$\text{計算値} \quad C = 44.4\% \quad H = 6.17\%$$

## b. 分子量(ゲル溝過法)

100,000 乃至 500,000

## c. 融点

約 230 ℃ で分解

## d. 比旋光度

$$[\alpha]_D^{25} \pm 4^\circ$$

$$(\lambda = 1, c = 1.0\%, 1N-NaOH)$$

## e. 赤外線吸収スペクトル(KBr 錠剤法)

図面に示す

## f 溶解性

0.5N-NaOH、ジメチルスルホキシドに易溶  
水に可溶

メタノール、エタノール、アセトン、クロロホルムに不溶

## g 虹色反応

|             |    |
|-------------|----|
| アントロクイニン酸反応 | 陽性 |
| フェノール-硫酸反応  | 陽性 |
| カルバゾール反応    | 陰性 |
| ニンヒドリン反応    | 陰性 |
| ヨード反応       | 陰性 |

## h 塩基性、酸性、中性的区別

凍結乾燥品の0.1モル水溶液は中性乃至微酸性

## i 物性

粉末品は白色

## j 横成継

無機酸または有機酸、例えば72%硫酸に室温で5分間放置後、7倍に水で希釈し100℃で4乃至5時間保つか、または、2M-

質量分析により分析すると、その生成物は次のモル比を有する。

比較的低分子量であって、DEAE-セルロースに非吸着性のオーレオバシラン(オーレオバシランAと命名する。)は、2,3,4,6-テトラ-O-メチル-D-グルコース 1.0モルに対して、2,4,6-トリ-O-メチル-D-グルコース 11乃至15モル、2,3,4-トリ-O-メチル-D-グルコース 0.8乃至1.2モル、2,3,6-トリ-O-メチル-D-グルコース 0.6乃至1.0モルおよび2,4-ジ-O-メチル-D-グルコース 0.8乃至1.2モルを示す。

比較的高分子量であって、DEAE-セルロースに吸着性のオーレオバシラン(オーレオバシランBと命名する。)は、2,3,4,6-テトラ-O-メチル-D-グルコース 1.0モルに対して、2,4,6-トリ-O-メチル-D-グルコース 3乃至5モル、2,3,4-トリ-O-メチル-D-グルコース 0.3

トリクロロ酢酸に100℃で6時間加熱するなどの方法により完全加水分解して得られる糖は、ペーパークロマトグラフィー、ガスクロマトグラフィー、およびグルコースオキシダーゼ・パーオキシダーゼ法による分析結果からD-グルコースであることが判明した。

## k 結合模式

(i) 比旋光度が $[\alpha]_D^{25} \pm 4^\circ$ と低い値を示すこと、および赤外線吸収スペクトルが $890\text{ cm}^{-1}$ 附近に吸収を示すことから、オーレオバシランを構成するすべての、若しくはほとんどのグルコース残基は、 $\beta$ -1結合をしている。

(ii) メチル化分析法、すなわち、オーレオバシランをジメチルスルホキシドに溶解後、メチルスルフィニルカルバニオンおよび次化メチルを用いる硝酸法でメチル誘導体化導き、これを酸で加水分解し、更にメチル化糖をアルデヒド-アセテートに誘導し、ガスクロマトグラフィー、ガスクロマトグラフィー。

乃至0.5モル、2,3,6-トリ-O-メチル-D-グルコース 0.2乃至0.4モルおよび2,4-ジ-O-メチル-D-グルコース 0.9乃至1.2モルのモル比を示す。

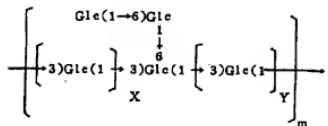
(iii) 細和スミス分離で得られた水不溶性の高分子画分をメチル化後、酸加水分解すると、大量の2,4,6-トリ-O-メチル-D-グルコースと少量の2,3,4,6-テトラ-O-メチル-D-グルコースを生成する。

また、オーレオバシランにエンド型 $\beta$ -1,3グルカナーゼを作用させると、その生成物には、主にラミナリビオース、少量のグルコースおよび更に少量の $\beta$ -6-O- $\beta$ -1,3-グルコシルラミナリビオースを含有する。これらの事実は、 $\beta$ -1,6結合のかなりの部分が $\beta$ -1,3結合を繰り返している主鎖中に $\beta$ -1,3結合と隣接する形で組み込まれていることを示すものである。

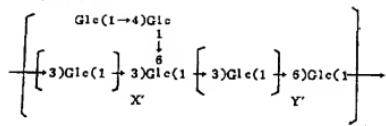
以上の事実から、本発明のオーレオバシランは、従来から知られている $\beta$ -D-グルカンとは全く

異なり、 $\beta-1,3$ 結合を繰り返している主鎖中に一定の割合で $\beta-1,6$ 結合を有していること、および主鎖を形成するグルコース残基から一定の割合でそのグルコース残基のC6位から短かい側鎖を分岐しており、更に、その側鎖には $\beta-1,6$ 結合以外にかなりの量の $\beta-1,4$ 結合を有している $\beta-D$ -グルカンである。上述の結果を総合的に判断すると、オーレオバシランの構造式は、繰り返し単位が、

式 1



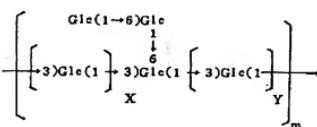
かおよび式 1



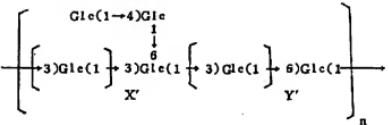
(但し、式中、Glcは $\beta$ -結合したD-グルコピラノース残基を示し、X、Y、X'およびY'は、X+YまたはX'+Y'が3乃至5になる1以上の整数を示し、mおよびnは、その比が1:3乃至5を示す。)

で表される $\beta-D$ -グルカン(オーレオバシランA)であるか、または、

式 1



かおよび式 1



(但し、式中、Glcは $\beta$ -結合したD-グルコピラノース残基を示し、X、Y、X'およびY'は、X+YまたはX'+Y'が3乃至5になる1以上の整数を示し、mおよびnは、その比が1:3乃至5を示す。)

で表される $\beta-D$ -グルカン(オーレオバシランB)であることが判明した。

本発明のオーレオバシランを製造する方法としては、例えば、オーレオバシディウム ブルランス (*Aureobasidium pullulans*) IFO 4464、IFO 4875、IFO 6353、IFO 5401、IFO 6725、オーレオバシディウム マンソンii (*Aureobasidium mansoni*) IFO 9233などを、炭素源、窒素源、無機塩などの適当な栄養源を含

有する固体培地、または液体培地に種痘して静置または通気搅拌などの培養方法で培養し、培養物中にオーレオバシランを産生せしめ、これを分離し採取すればよい。

また、培養物中に、オーレオバシランとともにブルランを生成せしめ、両者を分離し採取することもきわめて有効に実施できる。

培地の栄養源としては、本発明のオーレオバシランを産生し得るものであればよく、炭素源としては、グリセロール、キシロース、グルコース、ソルビトール、フラクトース、マルトース、イソマルトース、マルチトール、シュクロース、ラクトース、セロビオース、マルトオリオース、マルテトラオース、DE 10乃至70の高糖部分分解物、諸糖蜜などが適している。オーレオバシランとともにブルランを産生させる場合には、これら細胞を約3乃至20 wt%含む有せしめた液体培地を用いて好気的条件で培養するのが好適である。炭素源としては、硝酸塩、アンモニウム塩、尿素などの合成化合物やポリペプトン、酵母エキス、

麦芽エキス、コーンスティーブリカー、脱脂大豆抽出物、ペプタイド、アミノ酸などの天然有機物などが適宜利用できる。また、無機塩としては、リン酸塩、カリウム塩、硫酸塩、マグネシウム塩、必要に応じて鉄塩、マンガン塩、カルシウム塩などが適宜選択できる。

培養時のpH、温度は、該微生物が生育しオレオバシランを産生しうる条件であればよく、通常、pH 2.0乃至9.0、温度 15乃至35℃が選ばれる。また、培養期間は、オレオバシランの産生量が最大になる期間が選ばれ、通常、液体培地で通気搅拌する場合1乃至10日間である。

培養物からオレオバシランを分離採取する方法としては、例えば、前記液体培養物を沢過または遠心分離などの方法で微生物菌体を分離し、この菌体から採取する。この際、ブルランを採取する場合には、菌体を分離した溶液または上清から常法に従って採取すればよい。

菌体からオレオバシランを採取する方法は、菌体またはその破碎物から得られる細胞壁に、例

が適宜選択できる。

このようにして得られたオレオバシランから、ポリオール型オレオバシランを製造するには、オーレオバシラン1重量部（以下、本明細書では重量部を部と略称する。）に約0.01乃至約0.5Mの過酸素若しくはその水溶性塩、例えば、メタ過酸素ナトリウム、メタ過酸素カリウムを含む水溶液約50乃至500部に溶解、または懸濁させ、通常 pH 3乃至8の範囲で反応させる。この操作は、通常、緩やかな条件、例えば、暗所で室温以下の温度、適しくは15℃以下で1乃至5日間行ない酸化反応を終了させればよい。このようにして得られる主として側鎖部分が酸化されたポリアルデヒド型オレオバシランは、反応性に富んでおり、例えば、共有結合による固定化酵素の粗体などとして有利に利用できる。

更に、還元するには、酸化反応液にエチレン glycole を添加するか、または透析処理するなどの方法により、過剰の過酸素を消費、または除去した後、これに還元剤を加えて還元させる。

えば、热水、希液、希アルカリなどの溶出剤、適しくは、pH 7.0を越えるアルカリ性水溶液、とりわけ0.01乃至4.0Nの水酸化カリウム、水酸化ナトリウム、水酸化マグネシウム、水酸化カルシウムなどの希アルカリ性水溶液と接触せしめ、オレオバシランを溶出し、オレオバシラン溶液を採取する。

本溶液を、必要により濃縮、中和などした後、常法に従って、活性炭、イオン交換樹脂などにより脱色、脱塩精製し、濃縮、乾燥してオレオバシランの白色粉末を得る。

また、オレオバシラン水溶液を、メタノール、エタノール、イソブロパノール、アセトンなどの有機沈殿剤で処理したり、クロマトグラフィーにかけたりして分画精製し、超速心のおよび電気泳動的に均一な高純度オレオバシラン画面を採取することは容易に実施でき、更に、これを乾燥し、粉末化することも容易である。

この際の乾燥方法としては、通風乾燥、熱風乾燥、噴霧乾燥、ドラム乾燥、凍結乾燥などの方法

また、必要ならば、酸化反応液からポリアルデヒド型オレオバシランを分離採取した後で還元してもよい。

還元する方法は、オレオバシランの酸化物が還元されやすく、例えば、ニッケル触媒による水素還元、水素化鋼系ナトリウムによる還元などが適宜選択できる。このようにして還元した反応液は、常法に従って、ニッケル触媒を除去するか、または水素化鋼系ナトリウムを有機酸を添加するなどして分解させた後、有機沈殿剤で水溶液からの沈殿を振り廻すか、また、必要ならば、活性炭、イオン交換樹脂などで脱色、脱塩して精製し、濃縮して、ポリオール型オレオバシランのシラップ製品を、更に、乾燥、粉末化してポリオール型オレオバシランの粉末製品を採取することも容易である。このポリオール型オレオバシランは、オーレオバシランの主鎖に含まれるタ-1,3結合しているグルコース残基には変化なく、側鎖のグルコース残基および主鎖に含まれるタ-1,6結合しているグルコース残基が開鎖してポリオール型

となつたものである。

このようにして得られるオーレオバシランまたはポリオール型オーレオバシランは、化学工業、食品工業、医薬品工業など各種用途に自由に利用できる。化学工業用途としては、オーレオバシランが水可溶性の多糖であることから、これを含有せしめた組成物、成形物、例えば、頸粒、錠剤、シートなどが単独で、または他の材料と併用して自由に製造できる。また、ポリオール型オーレオバシランは、水易溶性であることから、例えば、樹脂、粘着剤、乳化剤、系、フィルム、被覆膜などの製造原料として好適である。

食品工業用途としては、オーレオバシランおよびポリオール型オーレオバシランは、共に、無味、無臭で、不消化乃至消化性の食物繊維であり、コレステロール低下作用、重金属排泄促進作用などを有していることから、結腸増進食品などの配合剤として有利に利用できる。

また、医薬品用途としても自由に利用できるが、とりわけ、細胞性免疫試験による顕著な抗腫瘍作用

用が見いだされたことより、抗腫瘍剤として好適である。

従って、オーレオバシラン、若しくはポリオール型オーレオバシランは、単独で、または、これらのいずれかに1種若しくは2種以上の薬剤、補助剤などを含有せしめることにより、例えば、注射薬、内服薬、外用薬などとして、オーレオバシラン、またはポリオール型オーレオバシラン感受性の悪性腫瘍、例えば、乳癌、肺癌、膀胱癌、子宮癌、大腸癌、胃癌、白血病、リンパ腫、皮膚癌などの治療に有利に用いることができる。

この治療に際して、他の抗腫瘍剤、例えば、シクロフォスファミド、塩酸ニムスチンなどのアルキル化剤、メソトレキサート、フルオロウラシル、テガフルなどの代謝拮抗剤、ブレオマイシン、マイトイシンC、アクトノマイシンCなどの抗生素、硫酸ビンクリスチン、硫酸ビンブラステンなどのアルカロイド、ブレドニゾン、メチルテストステロン、結合型エストロゲンなどのホルモン剤、インターフェロン、リンホトキシン、ツモ

ア ネクロシス ファクター、IL-2などのリンホカインなどの一種または二種以上と併用して、その治療効果を更に高めることも有利に実施できる。

次に、実施例を使って、オーレオバシランおよびポリオール型オーレオバシランの抗腫瘍作用、毒性、用法および用量について説明する。

#### 実験 1.

4週令のICR-JCL 雄マウスを各群10匹とし、Sarcoma 180 腹水ガン約 $6 \times 10^6$ を右腹腔部に移植した。移植後1日目から、実施例1の方法で得たオーレオバシラン、または実施例3の方法で得たポリオール型オーレオバシランを、マウス $\text{kg}$ 当たり、それぞれ1 $\text{mg}$ 、5 $\text{mg}$ 、10 $\text{mg}$ を含む生理食塩水として、1日1回、0.1mlずつ、連日10日間、腹腔内に注射した。対照は、オーレオバシラン、または、ポリオール型オーレオバシラン無含有の生理食塩水を、同様に投与した。移植後、35日目に解剖して腫瘍をとり出し、重量を測定し、オーレオバシラン、またはポリオール型オーレオバシラ

ン投与群の腫瘍重量を、対照群のそれと比較して、腫瘍増殖抑制率(%)を求めた。

$$\text{腫瘍増殖抑制率} (\%) = \frac{(A - B)}{A} \times 100$$

但し、Aは対照群の10匹の平均腫瘍重量を示し、Bはオーレオバシラン、またはポリオール型オーレオバシラン投与群のそれぞれの10匹ずつの平均腫瘍重量を示す。

結果は、第1表に示す。

表 1

| 投与量<br>mg/kg/日×回 | 平均腫瘍重量<br>(g) | 腫瘍抑制率<br>(%) | 完全退縮数<br>(匹) | 備考  |    |
|------------------|---------------|--------------|--------------|-----|----|
|                  |               |              |              | 0   | 対照 |
| 1 × 10 × 1       | 0.3           | 96.9         | 9            | 本発明 |    |
| A 5 × 10 × 1     | 0             | 100          | 10           | 本発明 |    |
| 10 × 10 × 1      | 0             | 100          | 10           | 本発明 |    |
| 1 × 10 × 1       | 0.4           | 95.8         | 9            | 本発明 |    |
| B 5 × 10 × 1     | 0             | 100          | 10           | 本発明 |    |
| 10 × 10 × 1      | 0             | 100          | 10           | 本発明 |    |
| 1 × 10 × 1       | 0             | 100          | 10           | 本発明 |    |
| A 5 × 10 × 1     | 0             | 100          | 10           | 本発明 |    |
| 10 × 10 × 1      | 0             | 100          | 10           | 本発明 |    |
| 1 × 10 × 1       | 0             | 100          | 10           | 本発明 |    |
| B 5 × 10 × 1     | 0             | 100          | 10           | 本発明 |    |
| 10 × 10 × 1      | 0             | 100          | 10           | 本発明 |    |

オーレオバシラン  
ポリオール型  
オーレオバシラン

後、23日目に解剖して腫瘍をとり出し、重量を測定して、実験1と同様に腫瘍増殖抑制率(%)を求めた。

結果は、第2表に示す。

実験 2

体重約25gのBDF<sub>1</sub>雄マウスを各群10匹とし、2角に切削したルイス(Lewis)筋肉を、背部皮下に移植した。移植後8日目から実施例1の方法で得られたオーレオバシラン、または実施例3の方法で得られたポリオール型オーレオバシランを、マウス即ちり、それぞれ0.02mg、0.1mg、1mgを含む生理食塩水として、1日2回、0.1mlずつ、連日10日間、静脈注射した。対照は、オーレオバシラン、またはポリオール型オーレオバシラン無含有の生理食塩水を、同様に投与した。移植

表 2

| 投与量<br>mg/kg/日×回 | 平均腫瘍重量<br>(g) | 腫瘍抑制率<br>(%) | 備考         |           |
|------------------|---------------|--------------|------------|-----------|
|                  |               |              | 0 × 10 × 2 | 8.4 ± 0.5 |
| オーレオバシラン         | 0.02 × 10 × 2 | 5.7 ± 0.4    | 32.1       | 本発明       |
| A                | 0.1 × 10 × 2  | 5.0 ± 0.6    | 40.5       | 本発明       |
| オーレオバシラン         | 1 × 10 × 2    | 3.9 ± 0.5    | 53.6       | 本発明       |
| B                | 0.02 × 10 × 2 | 5.9 ± 0.5    | 29.8       | 本発明       |
| オーレオバシラン         | 0.1 × 10 × 2  | 5.1 ± 0.4    | 39.3       | 本発明       |
| オーレオバシラン         | 1 × 10 × 2    | 4.2 ± 0.6    | 50.0       | 本発明       |
| オーレオバシラン         | 0.02 × 10 × 2 | 5.3 ± 0.6    | 36.9       | 本発明       |
| A                | 0.1 × 10 × 2  | 4.0 ± 0.7    | 52.4       | 本発明       |
| オーレオバシラン         | 1 × 10 × 2    | 2.9 ± 0.5    | 65.5       | 本発明       |
| オーレオバシラン         | 0.02 × 10 × 2 | 5.4 ± 0.6    | 35.7       | 本発明       |
| B                | 0.1 × 10 × 2  | 4.2 ± 0.7    | 50.0       | 本発明       |
| オーレオバシラン         | 1 × 10 × 2    | 3.0 ± 0.6    | 64.3       | 本発明       |

第2段の結果から明らかかのように、本発明のオーレオバシランおよびポリオール型オーレオバシランは、治療がきわめて困難とされている肺ガンなどの悪性腫瘍に対して、顕著な増殖抑制効果が見られる。

### 実験 3.

4 選令マウスを用いて、実施例1の方法で得られたオーレオバシランおよび実施例3の方法で得られたポリオール型オーレオバシランを、常法に従って、経口、腹腔内、または静脈の投与経路で急性毒性テストを行なった。

その結果、両ターグルカンとともに、きわめて低毒性の物質であって、投与可能な最大投与量においても、死亡例は認められなかつた。

従つて、正確な値とは言えないが、両ターグルカンともその LD<sub>50</sub> 値は、

|          |               |
|----------|---------------|
| 経口投与の場合  | 20 F 以上 / Kg  |
| 腹腔内投与の場合 | 5 F 以上 / Kg   |
| 静脈投与の場合  | 1.5 F 以上 / Kg |

であった。

培地 20 L に無菌的に種蒔し、27 °C で 5 日間通気搅拌培養を行なつた。菌体はブレコートフィルターにて戸別した。

汎被は、常法に従つて精製、濃縮、粉末化してブルラン粉末約 1.4 Kg を採取した。

一方、戸別された湿菌体は乾物として約 200 F であった。本菌体を、蒸水で洗浄した。この洗净菌体を菌体破砕機（商品名 Dino Mill）で破砕後、遠心分離して細胞壁を採取し、これをアセトンで脱脂し得られた細胞壁に 0.5 N 水酸化ナトリウム 4 L を加え、湿素気流中で 25 °C で 4 時間ゆっくり振とうを続け、次いで遠心分離し、この上清を水道水で透析し、更に濃縮乾燥して約 8 F の粗オーレオバシランを採取した。この 1 F を 0.01 M リン酸緩衝液 (pH 7.8) 200 mL に溶解し、DEAE-セルロースカラムにかけ、その非吸着部分を透析し、濃縮、凍結乾燥、粉末化して白色のオーレオバシラン A 粉末約 400 mg を得た。

本品をセファロース CL-6B を用いるゲル溝過法によって分子量を求めたところ、100,000 乃至

以上の実験からも明らかかのように、本発明のオーレオバシランおよびポリオール型オーレオバシランは、その有効用量からも極めて安全であり、悪性腫瘍の治療に有利に用いることができる。その投与方法としては、悪性腫瘍を治療する方法であればよく、例えば、皮下、筋肉内、腹腔内、静脈などへの注射、経口投与、麻酔剤として投与、外用剤として薬布、点滴などの投与が適宜選択できる。

本発明のオーレオバシラン、またはポリオール型オーレオバシランの成人 1 日当りの用量は、投与方法によつても異なるが、通常、0.1 mg 乃至 500 mg であり、例えば、経口の場合 10 mg 乃至 500 mg、注射の場合 0.1 mg 乃至 100 mg 程度が用いられる。

以下、本発明の実施例を述べる。

### 実施例 1. オーレオバシラン

オーレオバシディウム ブルランス IFO 4454 を澱粉部分分解物 (D.E.40) 10 %, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.2 %, ベプトン 0.2 %, NaCl 0.2 %, MgSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O 0.04 %, FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.001 % からなる

200,000 であった。また、本品を湿素気流下で 1N 水酸化ナトリウムで 1.0 % 水溶液を調整し、比旋光度を測定したところ、[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> + 1° であった。更に、本品の赤外線吸収スペクトルを、KBr 錠剤法で測定したところ、図面の結果を得た。

一方、DEAE-セルロース吸着部分は、0.1 N 水酸化ナトリウム水溶液で溶離し、前記の非吸着部分の場合と同様に精製し、粉末化して白色のオーレオバシラン B 粉末約 500 mg を得た。

本品の分子量、比旋光度、赤外線吸収スペクトルをオーレオバシラン A の場合と同様に求めたところ、分子量は 350,000 乃至 450,000 であり、比旋光度は、[α]<sub>D</sub><sup>25</sup> - 1° であった。また、赤外線吸収スペクトルは、図面の結果とほぼ同一のパターンを示した。

このようにして得られた各種オーレオバシランは、化学工業、食品工業、医薬品工業など各種用途に有利に利用できる。

### 実施例 2.

ショクロース 8 w/v %, 酵母エキス 0.2 w/v

モ、コーンスティーブリカ - 0.3w/v%、  
 $\text{NH}_4\text{NO}_3$  0.1w/v%、 $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.1w/v%、  
 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.05w/v%、 $\text{KC}_2$  0.05w/v%、  
 $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  0.0001w/v% および水からなる  
 液体培地 20 L を 120 ℃で 20 分間滅菌した後、冷  
 却し、始発 pH を 7.0 として、オーレオバシラン A  
 ブルランス IFO 6353 を植菌し、30 ℃で 4  
 日間通気搅拌培養した。この培養液から実施例 1  
 と同様に処理して、沪液からブルラン粉末約 0.7  
 kg を採取し、固体から粗オーレオバシラン約 7 g  
 を採取した。

この粗オーレオバシラン 1 g を 0.01 N 水酸化ナ  
 トリウム水溶液 500 mL に溶解し、常法に従って、  
 活性炭で脱色し、H 型、OH 型イオン交換樹脂で  
 脱塩して精製し、更に濃縮、濾絞乾燥し粉末化して  
 白色の高純度オーレオバシラン粉末約 800 mg を  
 得た。本品は、オーレオバシラン A および B を含  
 有しており、その比旋光度は  $[\alpha]_D^{25} 0$ ° であった。

本品は、実施例 1 と同様に各種用途に有利に利  
 用できる。

#### 実施例 4 フィルム

実施例 3 の方法で得たポリオール型オーレオバ  
 シラン A の乾物に対して、グリセリンを 10w/v%  
 を含有するポリオール型オーレオバシラン A の  
 10w/v% 水溶液を調製し、これをガラス板上に  
 流延して 70 ℃の熱風で乾燥し、透明で強韧なフィ  
 ルムを得た。

本品は、透明で光沢があり、強靭である。また、  
 防寒透湿においても、ガスバリアー性の大きい  
 ことにより、膨化されやすい物品を被覆、または  
 密封することが容易であり、それら物品の貯蔵期  
 間、有効期間を大幅に延長することができる。

#### 実施例 5 織 織

実施例 3 の方法で得たポリオール型オーレオバ  
 シラン B の 20w/v% を含む防糞尿袋を 80 ℃にして、  
 直径 0.3 m、長さ 1 m の円筒状ノズルより、  
 正力を 3 kg/cm² かけて空気の空気中にストランド  
 を押し出し、水分を蒸散乾燥させつつ巻取機にて  
 卷き取った。

得られた織物の太さは、約 20 ミクロンで、強靭

#### 実施例 3 ポリオール型オーレオバシラン

実施例 1 の方法で得たオーレオバシラン A または  
 オーレオバシラン B の 10% を、メタ過炭酸ナ  
 トリウム ( $\text{NaIO}_4$ ) 6.6 g を含む水溶液 500 mL に  
 溶解し、10 ℃で 7 日間、暗室にて攪拌しつつ酸化  
 反応させた。この反応液を水にに対して透析し、透  
 析内液に水素化鋼素ナトリウム ( $\text{NaBH}_4$ ) 1.5 g  
 を加え、室温で 2 日間還元反応を行なわせた後、  
 酢酸を加えて pH 6.0 とし、過剰の水素化鋼素ナト  
 リウムを分解し、更に水に対して透析した。

この透析内液に対して、3 倍容のメタノールを  
 加え、遠心分離して沈澱物を採取し、この沈澱物  
 を水に溶解し、再沈澱させた後、水に溶解し、液  
 結乾燥、粉末化して白色のポリオール型オーレオ  
 バシラン A 粉末またはポリオール型オーレオバ  
 シラン B 粉末約 7.5 g を得た。

本品は、原料のオーレオバシランよりも水に対する  
 溶解性に優れており、化学工業、食品工業、  
 医薬品工業などの各種用途に有利に利用できる。

であった。この織物は、撚ることも、撚むことも、  
 織ることもできる。しかも、親水性であって、無  
 毒であり、皮膚への刺激がないという特徴を有し  
 ているので、例えば、脱脂綿、生理綿、ガーゼ、  
 手術用などとして、また悪性腫瘍治療用として、  
 例えば、体内へ埋め込み形態などとして有利に  
 利用できる。また、他の織物と混紡すれば、その  
 吸湿性、非導電性、染色性を生かして、肌着、そ  
 の他衣料としても使用することができる。

#### 実施例 6 被 覆 膜

実施例 2 の方法で得た粗オーレオバシランの  
 0.5w/v% 水溶液を 35 ℃とし、これに産卵後、10  
 時間以内の新鮮卵を 30 秒間浸漬し、次いで、30 ℃  
 の暖風で 1 時間乾燥して、卵表面に被覆膜を形  
 成させた。この被覆膜を形成させた卵を、室温  
 (15 ~ 25 ℃) で保存して、その可食期間を対照の  
 無處理卵と比較した。その結果、被覆膜を形成さ  
 せた卵の保存期間は、約 5 ~ 10 倍にも延長された。

#### 実施例 7 カップ

実施例 1 の方法で得たオーレオバシラン A 粉末

を、攪拌しつつ水を吸収して含水率を約30w/wとし、これを押し出し成形機にかけてストランドを調製し、これを断面して直径25mm、長さ4mmのペレットを製造した。このペレットを射出成形機に供給し、樹脂温度120°Cにてカップ成形用金型内に射出注入して成形した。強硬、かつ半透明なカップが得られた。

#### 実施例8 肥料杭

配合肥料( $N = 14\%$ 、 $P_2O_5 = 8\%$ 、 $K_2O = 12\%$ ) 70部、実施例1の方法で得た粗オーレオバシラン 10部、硫酸カルシウム 15部、水5部とを充分混和した後、押出機( $L/D = 20$ 、圧縮比=18、ダイスの口径=30mm)で、80°Cに加熱して肥料杭を製造した。

本品は、肥料用容器が不要で取扱い容易であり、全層施肥に適した強度を有し、さらに配合割合を変えることにより、肥料成分の溶出速度を調節できるものである。

#### 実施例9 カプセル

実施例3の方法で得たポリオール型オーレオバ

施例1の方法で得たオーレオバシランA 2部、10%食塩水約40部をよく混和した後、これを蒸し上げ、更によく練り上げ、次いで、趙帝生地を調製して一夜放置した。これを超断して麺糰にし、沸騰水中で3分間ゆでて調理糰を得た。この糰は、こしの強い麺であった。

#### 実施例12 酸味

トリ肉のミンチ30部を砂糖2部、醤油2部、みりん6部と共にフライパンで煎りつけて調製したそぼろに、実施例1の方法で得たオーレオバシランB粉末3部を加えて、よく混和した後、約150~170°Cで約50kg/dm<sup>2</sup>に加熱、加圧して結合成形し、約1cmの厚さのシート状成形物を得た。これを選定を大きさに細断することにより、酸味とした。ビールのつまみや、子供のおやつなどに好適である。

#### 実施例13 肉内臓製品

解凍したスケソウクリ身4,000gに對し、マルトース80部、グルタミン酸ナトリウム80部、馬鈴薯粉200部、水300部、トリポリリン酸ナ

シランA 5w/v%およびゼラチン10w/v%を含有する水溶液を60°Cに加温し、脱氣した後、カプセル用金属棒を浸漬し、直ちに引き上げて40°Cの温風で徐々に乾燥した。彈性が強く、透明で光沢のある高品質の硬質カプセルが得られた。このカプセルは、僅口器、薬瓶などの容器として好都合である。

#### 実施例10 接着剤

ジメチルスルホキシド 30部、水 25部、実施例2の方法で得た高純度オーレオバシラン2部、ブルラン8部及びジベンジリデンキシリット2部の混合物を温度90°Cにて1時間攪拌し、溶解せしめた後、これを直径14mm、高さ50mmの円筒状の繊り上げ、繊り下げる可能な模様を備えた口紅式容器に注入して、室温で放冷し、圓形状接着剤を製造した。本接着剤をクラフト紙に捺りつけたところ、薄く均一に塗布することができ、初期接着力も充分であった。

#### 実施例11 麵類

米粉70部、馬鈴薯粉20部、小麦粉10部、食

トリウム12部、食塩120部および、予め実施例3の方法で得たポリオール型オーレオバシランA 10部とソルビトール1部とを溶解しておいた水溶液100部を播種し、約120タブツを定形して板付した。

これらを、30分間で内部の品温が約80°Cになるよう蒸し上げた。統いて、室温で放冷した後、4°Cで24時間放置して製品とした。

これらの製品は、いずれも足が強く、肌面が細やかで、艶やかな光沢を有しており、食感も良好であった。

#### 実施例14 握り物用衣

薄力粉100部に実施例2の方法で得た高純度オーレオバシラン1部を加え、これに水300部を加えて搅拌混和して衣を得た。この衣でエビ、サクマイモなどの種を包んで握ったところ、衣の口当りはよく、また程へのつきもよかったです。

#### 実施例15 アイスクリーム

40w/w%クリーム70部、全脂加糖練乳200部、全乳460部、脱脂粉乳20部、砂糖5部、マルト-

ス 5 部及び実施例 2 の方法で得た高純度オーレオバシラン 1.0 メリ水溶液 4 部を加熱して混合し、70 ℃で 30 分間加熱殺菌した後、ホモグナイザーを通して 3~4 ℃に急冷し、一夜熟成の後、フリーザーに入れれた。

「なめらかな口当たりのよいアイスクリームが得られた。

#### 実施例 16. レモンゼリー

寒天 3 部と実施例 3 の方法で得られたポリオール型オーレオバシラン B 5 部を水 200 部、砂糖 50 部を加えて溶解し、続いて 65 ℃まで冷却した。

これにレモン香料および着色料の少量を加えた炭酸水 350 部を混合して型に入れ、冷却して固やかなレモンゼリーを得た。本品は、食物繊維ポリオール型オーレオバシランを含有した健康増進食品である。

#### 実施例 17. ヨーグルト

脱脂粉乳 175 部、砂糖 80 部、マルトース 50 部、実施例 1 の方法で得たオーレオバシラン A 30 部を水 1,200 部に加熱溶解し、ホモグナイザーにか

#### 実施例 18. 純 脱脂粉乳

アスピリン 50 部に実施例 1 の方法で得たオーレオバシラン B 14 部、コーンスターク 4 部を充分に混合した後、常法に従って打鍛機により脱脂粉乳を製造した。

本品は吸湿性がなく、物理的強度も充分であり、しかも水中での崩壊は自らめて良好であった。

#### 実施例 20. 注 射 薬

実施例 1 の方法で得たオーレオバシラン A を 0.2 w/v メリ水溶液とし、次いで、活性炭にて脱色し、H 型、O H 型イオン交換樹脂にて脱塩精製し、減圧濃縮し、更に、メンブランフィルターにて無菌的に沪過した。得られた沪液を、1 バイアル当たりオーレオバシラン A が 200 mg となるように、被覆した 20 ml 容ガラス容器に充填し、液封乾燥し、密栓して注射用製剤とした。本品は生理食塩水などでオーレオバシラン A を溶解、または懸濁して、皮下、または筋肉内などに注射し、例えば、乳癌、肺癌、肝癌、白血病などの悪性腫瘍の治療に有利に用いられる。

けた後、約 85 ℃で 30 分間加熱して殺菌し、次いで、40 ℃で冷却した。これに市販されているヨーグルトの乳酸菌で調製したスター 30 部を複数し、37 ℃で 8 時間培養してゲル状のヨーグルトを得た。

このヨーグルトは、なめらかで光沢もあり、口当たりもよかったです。本品は、オーレオバシランを含有し、コレステロール低下作用を有する健康食品である。

#### 実施例 19. 純 脱脂粉乳

実施例 3 のポリオール型オーレオバシラン A の 20 w/v メリ水溶液 100 部に、マルトース 140 部、ビタミン A・パルミテート 20 部を加え、充分に搅拌混合した後、ガラス板上に撫延し、風乾した。次いで、この乾燥物を粉末とした後、常法に従って打鍛機で脱脂粉乳を製造した。打鍛剤 1 t 中には、ビタミン A・パルミテート 10 万 IU を含有しており、30 ℃で 3 ヶ月放置した後も、ほとんど減少は認められなかった。また、本品は経口用抗腫瘍剤として、例えば、胃癌、十二指腸癌、直腸癌などの悪性腫瘍の治療剤としても、有利に用いられる。

#### 実施例 21. 注 射 薬

実施例 3 の方法で得たポリオール型オーレオバシラン B を約 2 w/v メリ水溶液とし、次いで、実施例 20 と同様に活性炭、イオン交換樹脂にて脱色、脱塩精製し、濃縮し、メンブランフィルターにて無菌的に沪過した。得られた沪液を、ポリオール型オーレオバシラン B 2 w/v メリ水溶液とし、20 ml 容アンプル瓶に充填し、滅菌して注射用製剤とした。

本品は、腹腔内、静脈などに注射し、例えば、乳癌、膀胱癌、子宮癌、大腸癌、胃癌などの悪性腫瘍の治療に有利に用いられる。

#### 実施例 22. 飲 育

実施例 2 の方法で得た高純度オーレオバシラン粉末を、少量の流動パラフィンを加えて研和した後、ワセリンを加え 10 mg/t の飲薬膏とした。

本品は、例えば、皮膚癌、乳癌、リンパ腫などの悪性腫瘍の治療に有利に用いられる。

#### (発明の効果)

上記したことから明らかのように、本発明のメ

-D-グルカン（オーレオバシラン）およびこれらから誇導されるポリオール型オーレオバシランは、無味、無臭の不消化乃至難消化性の食物繊維であり、コレステロール低下作用、重金属排泄作用などを有していることから、健康増進食品の配合剤として好適であり、また、強い抗腫瘍作用を有していることから、各種悪性腫瘍の治療剤などとして、更に、錠剤、フィルム、シートなど各種成形物、組成物の製造にも有利に利用できる。

オーレオバシランの大規模製造方法としては、オーレオバシランに属する微生物の培養物から分離採取すればよく、とりわけ、オーレオバシランとブルランとを共に産生させ、これらを分離し採取する方法は、工業的製造方法としてきわめて有利に実施できる方法である。

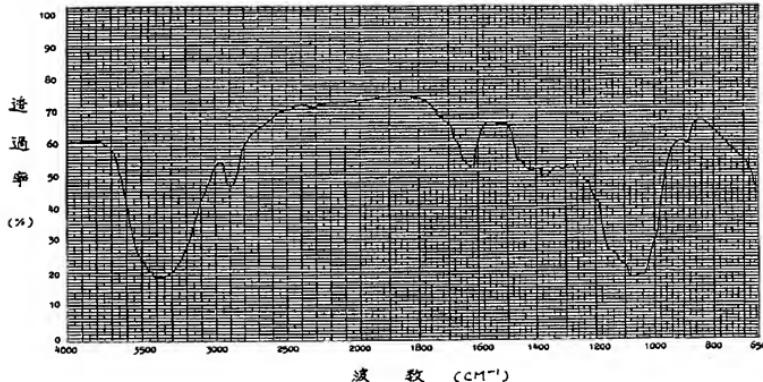
#### 4. 図面の簡単な説明

図面は、オーレオバシランの赤外線吸収スペクトルを示す図である。

特許出願人

株式会社林原生物化学研究所

代表者 林原 健一



【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載  
 【部門区分】第3部門第3区分  
 【発行日】平成6年(1994)3月15日

【公開番号】特開昭62-201901

【公開日】昭和62年(1987)9月5日

【年連号数】公開特許公報62-2020

【出願番号】特願昭61-44189

【国際特許分類第5版】

C08B 37/00 Z 7433-4C

A61K 31/715 ABA

ADU 8314-4C

47/36 A 7433-4C

B 7433-4C

D 7433-4C

H 7433-4C

### 手 続 業 正 書

平成5年3月2日

特許庁長官 麻生 廉 譲

#### 1. 事件の表示

昭和61年特許第44189号

#### 2. 発明の名称

B-D-グルカンとその製造方法及び用途

#### 3. 補正をする者

事件との關係 特許出願人

岡山県岡山市下石井1丁目2番3号

株式会社林原生物化学研究所

代表者 林 原



#### 4. 補正の対象

明細書における「発明の詳細な説明」の項

#### 5. 補正の内容

(1)明細書第16頁第6~7行に記載の「本発明は、化粧品工業、食品工業、医薬品工業など」を、「本発明は、化粧品、化粧品工業、食品工業、医薬品工業など」と補正します。

(2)明細書第19頁第5行に記載の「食品工業、化粧品など」を、「化粧品、食品工業、化粧品工業など」と補正します。

(3)明細書第35頁第3~5行に記載の「化学工業、食品工業、医薬品工業など各種用途に自由に利用できる。化学工業用途としては、」を、「化粧品、化粧品工業、食品工業、医薬品工業など各種用途に自由に利用できる。化粧品、化粧品工業用途としては、」と補正します。

(4)明細書第46頁第17行に記載の「化学工業、食品工業、医薬品工業など」を、「化粧品、化粧品工業、食品工業、医薬品工業など」と補正します。

(5)明細書第48頁第18~19行に記載の「化学工業、食品工業、医薬品工業など」を「化粧品、化粧品工業、食品工業、医薬品工業など」と補正します。